Aus dem Hygienischen Institut zu Kiel.
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Bernhard Fischer.)

Nachweis spärlicher Tuberkelbazillen

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER

MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

KGL. CHRISTIAN-ALBRECHTS-UNIVERSITÄT
ZU KIEL

vorgelegt von

Ernst v. Scheven
aus Barmen (Rheinland).

BERLIN
Verlag von R. Trenkel
1910.

Aus dem Hygienischen Institut zu Kiel.
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Bernhard Fischer.)

Nachweis spärlicher Tuberkelbazillen

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER

MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

KGL. CHRISTIAN-ALBRECHTS-UNIVERSITÄT ZU KIEL

vorgelegt von

Ernst v. Scheven
aus Barmen (Rheinland).

BERLIN
Verlag von R. Trenkel
1910.

Nr. 53.
Rektoratsjahr 1909/10.

Referent: Fischer.

Zum Druck genehmigt:
Siemerling, z. Z. Dekan.

Meiner Mutter.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153522_0036

Zur Erkennung der Tuberkulose in den frühesten Stadien haben wir in dem von Koch zuerst hergestellten Alt-Tuberkulin ein sehr gutes diagnostisches Hilfsmittel. Das Alt-Tuberkulin ist ein Glyzerinextrakt aus Kulturen von Tuberkelbazillen und findet verschiedene Anwendung. Subkutan injiziert erhöht es erheblich in einem an Tuberkulose erkrankten Organismus die Temperatur, kutan verimpft oder eingerieben, wie auch ins Auge eingeträufelt, macht es charakteristische Veränderungen, die bei einem sonst gesunden Organismus nicht beobachtet werden. So wertvolle Unterstützung uns das Alt-Tuberkulin in der Erkennung der Tuberkulose auch bietet, so bleibt uns schließlich doch als sicherstes Diagnostikum der Nachweis des Tuberkelbazillus selbst, gleichviel, ob dieser Nachweis mikroskopisch-kulturell oder durch den Tierversuch erbracht wird. Der Tierversuch bietet in letzter Linie die größten Garantien, erlaubt aber keine Schnelldiagnose, da es oft drei bis sechs Wochen dauert, bis die spezifischen Erkrankungen an Drüsen oder sonstigen Körperteilen nachgewiesen werden können. Auch die neueren Methoden, durch Quetschung der Drüsen nach der Injektion des verdächtigen Materials eine Beschleunigung des Tierversuchs zu erreichen, lassen gegebenenfalles erst nach zehn bis zwölf Tagen, oft auch erst später einen sicheren Nachweis der Tuberkulose zu. Der Tierversuch bleibt so immerhin das sicherste Mittel zum Nachweis der Tuberkulose. Wir haben aber in den heute bestehenden Untersuchungsmethoden für Se- und Exkrete zum Teil sehr zuverlässige Mittel zum schnellen und sicheren direkten Nachweis der Tuberkelbazillen (T. B.).

Die übliche Ziehlsche Färbemethode der einfachen Ausstrichpräparate hat da oft versagt, wo klinisch zweifellos eine Tuberkulose bestand und T. B. sicher vorhanden waren. Deshalb war es von jeher das Bestreben, durch geeignete Anreicherungsverfahren einen sicheren Nachweis der spärlich vorhandenen T. B. zu erbringen. Es gibt eine Menge von Methoden, die diese Anreicherung teils durch Sedimentierung mittels Natronlauge, teils durch das Kulturverfahren bezwecken und die oft da noch T. B. nachweisen, wo es sonst nicht möglich ist.

Seitdem neuerdings durch Uhlenhut die auflösende Wirkung des Antiformins für einen großen Teil organischer Gewebe und Bakterien sowie seine Indifferenz gegenüber den T. B. bekannt gegeben wurde, schien es mir zweckmäßig, die bisher bestehenden Verfahren mit dem von Uhlenhut bekannt gegebenen Antiforminverfahren zum Nachweis spärlicher T. B. zu vergleichen.

Einfachheit verbunden mit höchstmöglichster Zuverlässigkeit und Schnelligkeit sind die Anforderungen, die man an eine Methode, zumal bei ihrer Verwendung in einem großen Untersuchungsamte, stellen muß.

Diese Bedingungen erfüllten die bisherigen Methoden jedoch nicht in ausreichender Weise.

Ich untersuchte vergleichend 50 Sputa, bei denen im direkten Ausstrichpräparate T. B. nicht nachzuweisen waren. Ein kurze Beschreibung der vergleichend geprüften Methoden schicke ich der Vollständigkeit halber voraus.

Nach dem zumeist angewandten Sedimentierverfahren von Biedert-Mühlhäuser-Czaplewski werden 10—15 ccm Sputum mit der vier- bis fünffachen Menge 0,2 %iger Natronlauge eine Minute lang gut durchschüttelt. Tritt hierbei eine gleichmäßige Homogenisierung noch nicht ein, so wird noch mehr Natronlauge zugesetzt. Die Masse wird darauf unter stetigem Rühren in einer Porzellanschale kurz aufgekocht und gleichzeitig mit 5 % Essigsäure, wobei Phenolphthalein als Indikator dient, neutralisiert.

Mittels Absetzenlassen in einem Spitzglase oder durch

Zentrifugieren nach vorherigem Zusatz des doppelten Volumens 96%igen Alkohols gewinnt man ein Sediment, das zu Ausstrichpräparaten verarbeitet wird. Auf diese Weise gelang es mir, genau wie bei der Anwendung der folgenden „van Ketelschen" Methode, in 3 von 50 negativen Fällen noch T. B. nachzuweisen.

Van Ketel setzt zu 10—15 ccm Sputum 10 ccm Wasser und 6 ccm Acid. carbol. liquef., schüttelt tüchtig durch und ergänzt mit Wasser auf 100 ccm.

Wir erhalten auf diese Weise nach 12—24 Stunden reichlich viel Sediment, die hieraus hergestellten Ausstrichpräparate sind vor der Färbung noch mit Äther und Alkohol āā zu behandeln.

Ohne jeden weiteren Zusatz von Laugen oder Säuren versucht Dahmen durch 15 Minuten langes Sterilisieren, ähnlich dem Faulungsprozeß, durch Verflüssigung der Schleimmassen ein Sediment zu erhalten, das dann in einem Achatmörser verrieben und zu Ausstrichpräparaten verarbeitet wird. Zweimal ist es mir nach diesem Verfahren gelungen, T. B. zu finden.

Bessere Ergebnisse zeitigte das von Sachs-Müke angegebene Perhydrolverfahren.

Zum Sputum wird H_2O_2 unter stetigem Umrühren langsam zugesetzt. Dabei tritt sofort eine lebhafte Schaumentwicklung ein, wobei das Sputum sich verflüssigt. Im Schaume T. B. nachzuweisen, gelang mir weniger leicht, als in dem durch reichlichen Alkoholzusatz gewonnenen Sediment. In vier Fällen fand ich so noch T. B. Dies Verfahren liefert anscheinend bessere Resultate, ist aber kostspieliger wie die bereits erwähnten.

Das von Hammerl jüngst in der Münchener Medizinischen Wochenschrift Nr. 38 empfohlene Ammoniak-Acetonverfahren zeigte mir nicht den vom Verfasser gerühmten Vorteil einer schnelleren Verflüssigung gegenüber dem Antiformin. Mit meiner 15%igen Antiforminlösung kam ich schneller zum Ziele. Nach Hammerls Methode wird das Sputum durch Zusatz einer fünffachen Menge der

in Laboratorien üblichen Ammoniaklösung, wozu Kalilauge bis zu einer 1 %igen Konzentration gesetzt wird, verflüssigt. Die Masse wird geschüttelt und nach eingetretener Homogenisierung mit 5 ccm Aceton eine halbe Stunde zentrifugiert.

Sehr zähe Sputa lösten sich erst nach 24 Stunden, dieselben aber mit 15 % Antiformin bereits nach ein bis zwei Stunden. Mittels der Hammerlschen Methode glückte mir der Nachweis der T. B. noch in 3 von den 50 negativen Fällen.

Wie aus den Beschreibungen der einzelnen Methoden hervorgeht, sind sie mehr oder weniger umständlich. Durch die vielen Manipulationen zeigen sie im Vergleich zum Antiforminverfahren weder die gewünschte Schnelligkeit noch Sicherheit.

Uhlenhut war es, der 1908 das schon seit 1900 im Brauereigewerbe mit gutem Erfolge zur Reinigung der Bottiche und Leitungen angewandte Antiformin als sehr schleimlösendes Mittel für Sputa und seinen diagnostischen Wert zum Nachweis der T. B. bekannt gab.

Während sämtliche Bakterien sowie auch Fetzen vorhandenen Gewebes abgetötet bzw. aufgelöst werden, erfahren die T. B. durch das Antiformin kaum eine Schädigung.

Wir benutzen eine 15 %ige Lösung des käuflichen Antiformins in destilliertem Wasser. Das Verfahren ist denkbar einfach. Zu 5 ccm Sputum setzen wir das Vier- bis Fünffache dieser Lösung und schütteln einmal kräftig durch. Nach ein bis zwei Stunden sind meist auch die zähesten Sputa gelöst. Es erweist sich so eine 15 %ige Lösung genügend ausreichend. Ich entnahm aus einer durch 15 %ige Antiforminlösung hergestellten Sputumlösung nach zehn Minuten langer Einwirkung des Antiformins des öfteren Flöckchen und säte sie auf Agarplatten aus. Die meisten Platten blieben nach 48 stündigem Bebrüten steril, vereinzelt wuchsen noch Staphylococcen. Die Aussaat des nach einer Stunde durch Zentrifugieren gewonnenen Sedimentes ließ die Platten nach 48 stündigem und auch noch längerem Bebrüten steril.

Während nach zwei Stunden die anderen Bakterien und Gewebsreste einer schließlichen Abtötung und Auflösung anheimfallen, erfahren die T. B. keine wesentliche Veränderung, auch bei tagelanger Einwirkung des 15%igen Antiformins nicht. Diese Resistenz erklärt sich wohl aus der den T. B. eigentümlichen Fett-Wachsmasse. Wachs wird — wie Versuche belehren — von Antiformin nicht angegriffen. Aus der Antiformin-Sputumlösung werden schließlich die T. B. herauszentrifugiert, das Zentrifugat wird zu Präparaten verarbeitet und nach Ziehl gefärbt.

Ein durch Ausschluß der Zentrifuge auch für den praktischen Arzt und für kleine Laboratorien besonders brauchbares Verfahren ist das von Haserodt zuerst angegebene Antiformin-Ligroinverfahren. Das Ligroin wurde bereits von Lange und Nitsche zur Anreicherung der T. B. aus Sputum und Urin empfohlen, nachdem vorher die von den Verfassern angegebene Homogenisierungsmethode mit Kalilauge angewandt worden war. Ich habe bei meinen Versuchen Benzin und Petroläther oft mit gleich gutem Erfolge angewandt, wie das Ligroin, das ebenfalls ein Kohlenwasserstoff ist, der durch fraktionierte Destillation des Rohpetrols gewonnen wird. Die Anreicherung mit Antiformin und Ligroin handhabe ich auf folgende Weise:

Von dem mit Antiformin gelösten Sputum gießen wir zum Nachweis der T. B. ein Reagenzglas in $^3/_4$ Teilen voll, setzen 1 ccm Ligroin zu und verschließen mit Gummistopfen. Nachdem diese Mischung einige Zeit tüchtig geschüttelt worden ist — auf tüchtiges Schütteln kommt es hier besonders an —, kommt das Glas in ein 60° iges Wasserbad oder einfach in heißes Wasser. Nach dem Schütteln befindet sich das Ligroin in der Sput-Antiforminlösung in feinster Suspension. Hierdurch ist die Farbe der Lösung vom Gelbbraun mehr zum Gelbweiß übergegangen. Im Wasserbade, aber auch bei gewöhnlicher Temperatur — hier nur nicht so intensiv — findet eine Trennung der Antiformin-Ligroinmischung statt. Nach ca. einer Viertelstunde beobachten wir, wie das Ligroin sich als völlig klare

Flüssigkeit wieder auf der Antiformin-Sputumlösung abgesetzt hat. Das Ligroin hat eine gewisse Affinität zu der Fett-Wachsmasse der T. B. und da es in feinster Suspension in der Sput-Antiforminlösung verteilt ist, reißen die Tröpfchen bei ihrer Austreibung aus der Lösung die T. B. an die Oberfläche. An der Grenze bemerken wir dann nach einer Viertelstunde eine kleine 2—3 mm hohe weißliche Schicht. Hierin haben sich die T. B., wenn überhaupt vorhanden, angesammelt. Mittels Platinösen werden aus der Schicht Proben entnommen; die darüber stehende Ligroinschicht stört bei vorsichtiger Handhabung nicht, jedoch kann man sie leicht mittels einer Wasserstrahlluftpumpe oder sonstwie absaugen. Auch genügen bei Bereitung der Präparate die üblichen Fixierungsmethoden — dreimal durch die Flamme ziehen. Jedoch bietet die Verwendung eines Tröpfchens einer 10 %igen Eiweißlösung oder desselben nicht verarbeiteten Sputums wesentliche Erleichterung. Bei Verwertung des Sputums wird zwar die vorherige Reinheit des Bildes durch die wieder hineingebrachten Bakterien und Gewebsfetzen wesentlich beeinträchtigt, aber die Orientierung wiederum erleichtert. Zur Bereitung der Präparate tupft man drei bis vier der Schicht entnommene Ösen einfach in das auf den Objektträger gebrachte Tröpfchen Eiweißlösung ab, läßt es völlig lufttrocken werden, fixiert dann über der Flamme und färbt nach der üblichen Ziehlschen Methode fünf Minuten mit konzentriertem Carbolfuxin und entfärbt mit Salzsäurealkohol.

Wir finden in auf diese Weise hergestellten Präparaten des öfteren T. B. bei Sputis, bei denen in direkten Ausstrichpräparaten solche auch in mehreren Präparaten und nach längerem Suchen nicht nachzuweisen gewesen sind.

Wo Zentrifugen mit großen Tourenzahlen (4—5000) nicht zur Verfügung stehen, ist dies eine gute und zuverlässige Methode. Hat man aber eine Zentrifuge, so gewinnt man mit dieser aus der Sput-Antiforminlösung das Sediment, welches, wie bei dem Ligroinverfahren, ver-

arbeitet wird. Die folgende Zusammenstellung gibt einen kleinen Überblick über die bei der Vergleichsprüfung gefundenen Resultate. Von 50 in direkten Ausstrichpräparaten negativen Sputis waren nach der Behandlung mit:

	Positiv	in %	Zahl der T. B.	
Antiformin (Zentrifuge)	6	12 %	10—20	in jedem Gesichtsfeld.
Antiformin-Ligroin . .	6	12 %	3—5—8	
Biedert-Mühlhäuser-Czaplewski	3	6 %	vereinzelt	nicht in jedem Gesichtsfeld.
van Ketel	3	6 %	„	
Sachs-Müke	4	8 %	„	fast in jedem Gesichtsfeld.
Hammerl	3	6 %	„	
Dahme	2	4 %	„	nicht in jedem Gesichtsfeld.

Das Antiformin-Zentrifugen- und das Antiformin-Ligroinverfahrens lieferte also in 6 von 50 negativen Fällen ein positives Resultat. Jedoch war bei dem Ligroinverfahren die Anzahl der in jedem Gesichtsfeld vorhandenen T. B. bedeutend geringer. Positiv wurden Sputum 7, 11, 19, 29, 32, 46.

Die überwiegende Mehrheit der T. B., die ich also durch das Antiformin-Zentrifugenverfahren erhielt, veranlaßte mich, um die Zuverlässigkeit des Antiformin-Ligroinverfahren zu prüfen, zu folgenden Versuchen:

Ich schüttelte zu wiederholten Malen eine Antiformin-Sputumlösung eines schon im direkten Ausstrichpräparat spärlich T. B. aufweisenden Sputums mit Ligroin aus. Nach jedesmaliger Untersuchung der Schicht saugte ich den Rest derselben mit der Wasserstrahlluftpumpe ab. Ich wiederholte die Durchschüttelung mit Ligroin so oft (ca. drei- bis viermal), bis ich schließlich T. B. nicht mehr nachweisen konnte. Dann zentrifugierte ich in der von Thilenius angegebenen Zentrifuge bei 6000 und oft mehr Umdrehungen fünf Minuten lang. Um das spezifische Gewicht der Lösung zu verringern, setzte ich zu 10 ccm 5 ccm Azeton, wodurch ich eine leicht bewegliche Masse

bekam. In dem sehr spärlichen Zentrifugat gelang es mir, in neun von zehn Fällen, sehr vereinzelt T. B., aber jetzt nicht mehr in jedem Gesichtsfeld nachzuweisen.

Daneben untersuchte ich in mehreren Fällen die Sput-Antiforminlösungen, die mit Ligroin ein negatives Ergebnis hatten, ebenso. Dabei konnte ich auch mit der Zentrifuge T. B. nicht nachweisen.

Die Antiformin-Ligroinmethode erscheint mir so genügend sicher zum Nachweis spärlicher T. B. im Sputum. Sie ist besonders für den praktischen Arzt zu empfehlen. Die Antiforminmethoden zeigen auch zur Genüge die Vorteile gegenüber andern Methoden, sie erfüllen die Anforderungen, die in bezug auf Einfachheit, Sicherheit und Schnelligkeit gestellt werden, in genügender Weise. Auch haben sie den Vorzug der Billigkeit und dies insofern, als früher bei der Untersuchung eines jeden Sputums mindestens zwei Objektträger zu Ausstrichpräparaten verbraucht wurden und auch gefärbt werden mußten.

Die durch die Konzentration der T. B. auf ein ganz geringes Sediment bedingte Einengung des Untersuchungsgebietes auf höchstens $^1/_2$ qcm, erlaubt uns ein gleichzeitiges Auftragen von fünf Sputa auf einen Objektträger. Der Verbrauch an Objektträgern wird somit für 1000 Untersuchungen auf 200 reduziert, während hierfür sonstig 2000 nötig waren. Daneben wird an den zur Färbung nötigen Lösungen enorm gespart, wie auch das zeitraubende Suchen fortfällt.

In Sputis, in denen T. B. nur ganz spärlich vorhanden waren, wurden nach der Anreicherung mit Antiformin massenhaft in jedem Gesichtsfeld T. B. gefunden.

Neben den angegebenen vergleichenden Untersuchungen wurden am hiesigen „bakteriologischen Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten“ vom 1. Juli bis 1. Dezember 1909 530 Sputa untersucht. In 138 Fällen wurden T. B. sofort in direkten Ausstrichpräparaten nachgewiesen. In weiteren 28 Fällen fanden sich T. B. erst nach längerem Suchen und schließlich konnten in 364 Fällen

T. B. überhaupt nicht nachgewiesen werden. Nach der Anreicherung mit der Antiformin-Ligroinmethode wurden in 38 von diesen 364 negativen Fällen, also in nicht ganz 10 %, T. B. nachgewiesen.

In den erstgenannten 28 Fällen bekamen wir nach Anreicherung eine Fülle von T. B. in jedem Gesichtsfeld.

Nach all diesen Erfahrungen werden die einlaufenden zu untersuchenden Sputa sofort mit der Antiformin-Ligroinmethode behandelt. Eine Untersuchungsmethode, die nur zu empfehlen ist. Denn die Ausgaben für das Antiformin und Ligroin stehen in keinem Verhältnis zu den bereits oben erwähnten Ersparnissen an Material und Zeit, ganz abgesehen von dem zuerst ins Gewicht fallenden Vorteil der größeren Sicherheit im Nachweis der T. B.

Wie für Sputa, so verwendet man das Antiformin in gleicher Lösung auch für Fäces, Urine und Exsudate. Die Fäcesmassen werden, wenn sehr fest, in einem Mörser mit Wasser verrieben und dann weiter mit der vier bis fünffachen Menge Antiformin versetzt.

Nach wiederholtem Durchschütteln setzt sich nach zwei bis vier Stunden ein grauweißes bis weißes Sediment ab, in dem bei Vorhandensein T. B. leichter nachzuweisen sind, als im direkten Ausstrichpräparat. Die sofortige Desodorierung der übelriechendsten Fäcesmassen, sowie von jauchigen Sputis und Exsudaten fällt dabei jedem beim Arbeiten mit Antiformin sehr angenehm auf.

Zum Nachweis der T. B. in Urin und Exsudaten versetzte ich erst das durch Zentrifugieren gewonnene Sediment mit der 15 %igen Antiforminlösung in vierfacher Menge. Dadurch erhalte ich eine doppelte Konzentrierung oder Anhäufung von T. B.

Mittels des Antiformin-Ligroin- oder Zentrifugenverfahrens wies ich so noch in mehreren Fällen T. B. nach.

Neben diesem Sedimentierverfahren habe ich des öfteren die Anreicherung durch das Kulturverfahren versucht. Ich benutze dazu den von Hesse angegebenen Heyden-Agar. Die T. B. erfahren auf diesem Nährboden

eine schnellere Vermehrung, während andere Bakterien weniger gut wachsen. Mehrfach versuchte ich, durch Aussäen einer sogenannten „Linse", die vorher gründlichst in steriler physiologischer Kochsalzlösung abgewaschen war, T. B. nachzuweisen. Jedoch muß ich erwähnen, daß die eingesandten Proben schon ein oder zwei Tage alt waren und von einem besonderen sterilen Arbeiten nicht die Rede sein konnte. Eine Vermehrung nach sechs bis sieben Stunden, wie sie von Hesse angegeben wird, konnte ich dabei nicht beobachten. Erst am dritten Tage stellte ich bei einer Aussaat, die vorher T. B. spärlich enthielt, im Abklatschpräparat an einer Stelle eine deutliche Vermehrung fest. Die starke Verunreinigung durch andere Bakterienkolonien, sowie die Schwierigkeit, die das Züchten der T. B. auch sonst bietet, machen dies Verfahren für einen schnellen und sicheren Nachweis der T. B. wohl wenig geeignet. Bei im direkten Ausstrichpräparat keine T. B. enthaltenden Sputis gelang mir der kulturelle Nachweis überhaupt nicht. Dagegen ermöglicht die Vorbehandlung der Sputa mit Antiformin und die dadurch bedingte Ausschaltung anderer Keime, jetzt die T. B. bedeutend leichter in Reinkultur zu züchten. Zuerst zeigte Uhlenhut an Tierversuchen, daß die Lebensfähigkeit der T. B. durch das Antiformin wenig beeinträchtigt wurde. Trotz der längeren oder kürzeren Einwirkung von verschieden konzentrierten Antiforminlösungen behalten die T. B. ihre Tierpathogenität.

Diese Erfahrung benutzte Uhlenhur zur Züchtung der T. B. auf günstigen Substraten. Das schnelle von Uhlenhut beschriebene Wachstum — schon nach wenigen Stunden in Abklatschpräparaten eine reiche Vermehrung — glückte mir nicht zu beobachten. Zu meinen Züchtungen benutzte ich hier wieder den von Hesse angegebenen Nährboden mit Heyden-Nährstoff, dessen Zubereitung kurz angegeben sei:

> Solve 5 g Heyden-Nährstoff unter Quirlen in Aq. dest. 50,0, füge dann die gewonnene Auflösung zu einer Lösung von NaCl. 5, Glyzerin 30,

Agar 10—20, Normalsodalösung 5 in Aq. dest. 950,0. Koche das Ganze unter stetem Rühren 15 Minuten und filtriere im Dampfstrom.)

Auf diesem Nährboden züchtete ich nach Vorbehandlung mit Antiformin des öfteren Reinkulturen von T. B. nach folgender Methode:

Ich versetzte ein bereits nach dem direkten Ausstrichpräparat positiv befundenes Sputum mit der vier- bis fünffachen Menge der 15 %igen Antiforminlösung. Nach einer halben Stunde zentrifugierte ich und säte dann das mehrfach gewaschene Sediment aus und zwar wurden mehrere Ösen auf jede Platte gründlichst eingerieben. Deutliche Vermehrung in Abklatschpräparaten trat nach drei bis vier Tagen ein. In einem Fall gelang es, nach fünf Tagen kleine Kolonien nachzuweisen, diese wuchsen sehr schnell und waren nach zehn Tagen von Stecknadelkopfgröße. Es gelang mir so des öfteren, nicht aber in allen Fällen, in denen T. B. mikroskopisch nachgewiesen waren, T. B. in Reinkultur zu züchten. Auch ließen sich die T. B. auf anderen Nährböden leicht weiter züchten, z. B. auf Glyzerin-Kartoffel.

Wie das Züchtungsverfahren, so wird durch Vorbehandlung mit Antiformin auch der Tierversuch wesentlich vereinfacht. Haben wir ein für Tuberkulose verdächtiges infektiöses Material, so können wir mit Leichtigkeit andere Keime durch Antiformin abtöten, ohne daß die T. B. selbst Schaden leiden. Nach Abwaschen mit steriler Kochsalzlösung kann das so vorbereitete Material verimpft werden.

Uhlenhut hat ferner gezeigt, daß das Antiformin, in schwachen Lösungen dem Tierkörper einverleibt, keine schädigenden Störungen hervorruft. Eine 5 %ige Lösung machte, intraperitoneal einem Meerschweinchen einverleibt, keinerlei Erscheinungen, dagegen riefen stärkerprozentige Lösungen Nekrose hervor.

Es eröffnet sich damit die Aussicht, die baktericide Wirkung auch praktisch in der Therapie verwerten zu können.

Es erübrigt sich, über die eigentliche Wirkung des Antiformins einiges zu sagen. Antiformin ist ein patentiertes Präparat, angeblich bestehend aus einer Lösung gleicher Teile Natrium-Hypochlorids und Natronlauge in Wasser. Durch die Natronlauge scheint auch die größere Haltbarkeit in den Lösungen des Antiformins gegenüber dem Eau de javelle bedingt zu sein. Bei der Herstellung der Verdünnungen bemerken wir einen kleinen flockigen Niederschlag, der mit Leitungswasser stärker ist als mit destilliertem. Jedoch nach Filtrieren erhalten wir klare, haltbare Lösungen von etwas grünlicher Farbe. Bringt man die Lösung nun mit Sputum zusammen, so bemerkt man eine rege Gasbildung. Das entweichende Gas hat einen intensiven Chlorgeruch. Den Vorgang der Gasbildung stelle ich mir ungefähr folgend vor:

NaOCL wirkt auf die organischen Substanzen als Oxydans.

Na	$Cl\uparrow$
Na	$Cl\uparrow$
O	$O\uparrow$

$$Na_2O + H_2O - 2\,NaOH.$$

So wird wahrscheinlich neben Chlor auch Sauerstoff frei. Chlor wie Sauerstoff haben beide in statu nascendi wie bereits durch das Sachs-Mükesche Perhydrolverfahren gezeigt wird, eine höchst lösende Wirkung. Den oben beschriebenen Vorgang kann man sich nach Analogie der Jod-Zink-Stärkelösungreaktion bei Gegenwart eines Oxydans erklären. Doch sind bei der komplizierten Zusammensetzung der in Lösung übergehenden Substanzen andersartige Umsetzungen nicht ausgeschlossen.

Ich habe nun verschiedentlich versucht, durch Chlor- und Sauerstoffentwicklung auf andere Weise diesen Vorgang zur Homogenisierung bzw. Auflösung des Sputums zu benutzen. Doch ist mir dies in so einwandsfreier Weise, wie bei der Antiforminverwendung, bis heute noch nicht geglückt.

Es ist bei der Antiforminwirkung wohl die besonders günstige und geschickte Kombination von Chlor und Sauerstoff, die dem Präparat diese Auflösungskraft gibt.

Die geringe Beeinträchtigung der Färbbarkeit und Lebensfähigkeit in 15 %iger Konzentration machen so das Antiformin zu einem ausgezeichneten Hilfsmittel bei dem Nachweis der T. B.

Eine Beobachtung, die vor mir schon Stabsarzt Hüne gemacht hat, möchte ich nicht unerwähnt lassen. Es ist das auffallende Auftreten mehr oder weniger zahlreicher gekörnter Formen des T. B. nach der Behandlung mit Antiformin.

Ich behandelte mit verschieden konzentrierten Antiforminlösungen verschiedene Zeit lang eine Reihe positiver Sputa, in denen im direkten Ausstrichpräparat fast nur nach Ziehl glatt gefärbte und nur ganz vereinzelt gekörnte Formen zu sehen waren.

Bei meinen Versuchen ließ ich eine 15—20—40 %ige und eine unverdünnte Lösung einwirken. Die Proben wurden nach 1—6—24 Stunden entnommen und wie üblich nach Ziehl gefärbt. Die gekörnten Formen treten nach einer Stunde bei 15 %iger Antiforminwirkung reichlicher auf als im Ausstrichpräparat, was aber nicht viel sagen will, denn diese Formen haben ja auch eine Anreicherung erfahren. Dagegen zeigt sich die Körnelung nach einer Stunde in der 20 %igen Antiforminlösung und 40 %igen viel deutlicher ausgeprägt bei annähernd gleicher Anzahl von T. B. im Gesichtsfeld wie bei der Einwirkung des 15 %igen Antiformins. In beiden Lösungen traten Formen auf, die an den Enden und in der Mitte ein besonders intensiv gefärbtes Korn zeigten.

In den Proben aus der 15 %igen Lösung waren zwischen den eben beschriebenen Körnern noch schwächer gefärbte Übergänge zu sehen, die in der 20 %igen Lösung sich als ganz kleine Körnchen zu erkennen gaben, in der 40 %igen Lösung aber zum Teil verschwanden. In der 40 %igen und unverdünnten Lösung sah ich viele Formen, die nur die

zwei Endkörper oder auch noch das mittelständige Korn, sonst aber nichts gefärbt zeigten.

Auffallend war auch das Auftreten von kleinen, wie Bruchstücke aussehenden Formen bei den Proben aus der unverdünnten Lösung. In allen Lösungen waren aber immer auch glatte Formen vertreten. Die gekörnten schienen mir allerdings mit steigender Konzentration der Antiforminlösung zuzunehmen. Eine der Zeitdauer entsprechende Wirkung konnte ich nicht feststellen, höchstens bei der Einwirkung der 40% und unverdünnten Lösung. Dafür spricht ja auch meine Erklärung der Antiforminwirkung. Sind Chlor und Sauerstoff die wirksamen Elemente, so entwickeln sie sich nur kurze Zeit, d. h. solange das Natrium-Hypochlorid vorreicht. Daß diese Entwicklung in den Sputumlösungen wirklich nur einige Zeit vor sich geht, zeigt die Jod-Stärkeblaureaktion, diese geht bei frisch bereitetem Sputum spontan vor sich, verschwindet aber gleich wieder; in alten Antiformin-Sputum-Lösungen tritt sie überhaupt nicht mehr auf, d. h. der Entwicklungsprozeß von freiem Chlor und Sauerstoff ist beendet. Dagegen tritt diese Reaktion noch lange Zeit, sogar nach Tagen noch, auf in hoch konzentrierten Antiform.-Sputum-Lösungen, was besagt, daß sich genügend Natrium-Chlorid findet, das immer noch zerlegt wird, und so erklärt sich auch die — allerdings geringe — schädigende Wirkung der hoch konzentrierten Lösungen auf die Form des Bacillus, die aber für unsere Anreicherungsmethoden nicht in Betracht kommen.

Eine Abnahme in der Färbung bemerkte ich erst nach zehntägiger Einwirkung. Bei Anwendung derselben Färbemethode waren in den höheren Konzentrationen die Formen blasser und augenscheinlich weniger an Zahl.

Das Resultat meiner Untersuchungen ist:

1. Das Antiformin-Auflösungs-Verfahren liefert schneller und zuverlässiger den Nachweis spärlicher T. B., als die bis zu seiner Einführung bestehenden Anreicherungsmethoden.

2. Die Färbbarkeit und Lebensfähigkeit der T. B. er-

leidet in einer 15 %igen Antiforminlösung keine Beeinträchtigung.

3. Das Antiformin-Ligroinverfahren erscheint für den praktischen Arzt das einfachste und sicherste Mittel, um Tuberkelbazillen im Sputum nachzuweisen.

4. Noch besser und einwandsfreier ist das Antiformin-Zentrifugenverfahren. Doch dabei sind mindestens 4 bis 5000 Umdrehungen pro Minute nötig, die mit gewöhnlichen Laboratoriumszentrifugen nicht erreicht werden.

Anmerkung:

Anfang Dezember 1909 erscheinen zwei Arbeiten, auf die ich kurz eingehen muß. Die eine ist von Herrn Dr. Köhler im 1. Dezemberheft der Deutschen Med. Wochenschrift Nr. 48 veröffentlicht. Verfasser gibt dort seine nach der Doppelmethode Ellermann und Erlandsen gewonnenen Resultate an. Mir war diese Methode leider nicht bekannt, sonst hätte ich sie noch zum Vergleich herangezogen. Die Vorschrift dazu füge ich der Vollständigkeit halber mit an:

1. 10—15 ccm Sputum mit $^1/_2$ Volum 0,6 %iger Na_2CO_3-Lösung versetzt, bleiben 24 Stunden im Brütschrank bei 37°.

2. Die überstehende Flüssigkeit wird dann abgegossen. Ein Volumen Bodensatz mit vier Vol. 0,25 %igem NaOH umgerührt und aufgekocht. Vorher muß der Bodensatz zur völligen Entfernung der Na_2CO_3-Lösung zentrifugiert werden.

3. Nach dem Aufkochen gewinnt man durch abermaliges Zentrifugieren ein Sediment, das in Präparaten verarbeitet wird.

Ich habe einige Sputa mit dieser Methode behandelt, sie liefert schließlich auch ein geringes Sediment, in dem sich die spärlich vorhandenen T. B. ansammeln, doch bietet sie keine Vorzüge gegenüber der Antiforminmethode, weil sie umständlicher ist und auch nicht so schnell wie die Antiforminmethode arbeitet.

In Nr. 23 der Hygienischen Rundschau 1909 gibt Herr Dr. Rau eine Übersicht über vergleichende Untersuchungen zwischen Antiformin-Zentrifuge-, Antiformin-Ligroin- und Kali-Lauge-Ligroinverfahren. Verfasser kommt in Übereinstimmung mit mir zu dem Schluß, daß das Antiformin-Ligroinverfahren als sehr zuverlässig empfohlen werden kann, das Zentrifugenverfahren jedoch sicherer arbeitet.

Meinem verehrten Lehrer und Chef Herrn Geheimrat Prof. Dr. Fischer spreche ich für die liebenswürdige Unterstützung und gebotene Anregung bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit meinen ergebensten Dank aus.

Literaturangabe.

Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Band XXXII 1909 von Uhlenhut-Xylander. S. 158.

Hygienische Rundschau:

Nr. 18. 1908 S. 1090. Hüne.

Nr. 12. 1909 S. 699. Haserodt.

Münchener Medizinische Wochenschrift:

1906. Nr. 34. S. 1660. Sachs-Müke.

Kolle-Wassermann: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Band II. S. 87 ff.: Untersuchungsmethoden.

Vita.

Am 29. Juni 1883 wurde ich, Ernst von Scheven, als Sohn des Rentners Ernst von Scheven in Barmen geboren. 1903 bestand ich am Gymnasium meiner Geburtsstadt die Reifeprüfung. Danach studierte ich in Marburg, Halle, Kiel, München und Berlin und zwar anfänglich Theologie, späterhin aber Medizin. 1906 bestand ich in München die ärztliche Vorprüfung, 1909 in Kiel die ärztliche Staatsprüfung. Meiner militärischen Dienstpflicht mit der Waffe genügte ich in München im Infanterie-Leibregiment im Jahre 1906/07. Das Rigorosum bestand ich am 17. Dezember 1909 in Kiel.

C. Schulze & Co., G. m. b. H., Gräfenhainichen.

C. Schulze & Co.
G. m. b. H.
Gräfenhainichen
(Bez. Halle)